

Estudio de la evolución de parámetros indicadores del proceso de pasificación de uva tinta vr. Garnacha sometida a diversos sistemas de secado

Yolanda Carmona; M^a Jesús Ruiz Bejarano; Carmelo García Barroso; M^a del Carmen Rodríguez Dodero
M^a de Valme García-Moreno*

*Departamento de Química Analítica. Facultad de Ciencias. Universidad de Cádiz. Campus Universitario de Puerto Real s/n.
11510, Puerto Real, Cádiz. Tf: 956016356, correo-e: valme.garcia@uca.es.*

Resumen

El objetivo de este trabajo ha sido el estudio de la evolución de ciertos parámetros indicadores de la calidad del pasificado de la uva tinta vr. Garnacha sometida a dos procesos de pasificación diferentes: Soleo Natural de las uvas en paseras al aire libre y Pasificado Artificial en cámara climática con control de temperatura y humedad, en ausencia de luz. Los parámetros estudiados en estos procesos han sido los relacionados con el poder antioxidante y la seguridad alimentaria de los mostos y uvas obtenidos, concretamente: poder antioxidante, índice de polifenoles totales, color, Ocratoxina A y ácido glucónico.

Palabras clave: Uva tinta; Garnacha; Pasificado; Poder Antioxidante; Seguridad Alimentaria

1. Introducción

Hoy día estamos asistiendo a la recuperación de vinos tintos dulces tradicionales españoles como los elaborados en la zona Mediterránea, Almería, Alicante, Ampurdan, Priorato, Valencia,... o los vinos tintos dulces de Tenerife. En estos vinos se utiliza uva tinta previamente pasificada o sometida a proceso de secado, predominando el secado de las uvas al sol en zonas próximas a la viña de origen. En este proceso es muy difícil controlar las condiciones a las que se someten las uvas durante el secado (temperatura, humedad, insolación,...), además de presentar otras desventajas como la exposición de las uvas a los factores climáticos del momento y al ataque de insectos y otros animales del entorno natural donde se encuentren.

2. Material y Métodos

2.1. Muestras

Las muestras analizadas son todas de la variedad tinta Garnacha procedentes de la zona de vinos de la tierra de Cádiz. Las uvas, antes de proceder a su presado, fueron sometidas a dos procesos de pasificación: (1) Soleo Natural en paseras al aire libre y (2) Pasificado Artificial en cámara climática con control de temperatura y en ausencia de luz.

Tabla 1: Pérdida de peso en % (Códigos de las muestras) según el tipo de pasificado y los días de secado

Días de secado	0	2	6	8	10	14
Soleo Natural (SN)	In	12,81 (SN1)	20,21 (SN2)	16,49* (SN3)	24,42 (SN4)	32,08 (SN5)
Soleo Artificial (SA)	In	8,16 (SA1)	22,02 (SA2)	31,59 (SA3)		

* Valor tras lluvias del día anterior a la toma de muestras.

En el Soleo Natural, en adelante SN, los racimos se extendieron en esteras de esparto (paseras) expuestos a las condiciones ambientales sin ningún tipo de protección contra la lluvia, rocío o ataque de insectos. El ensayo experimental se llevó a cabo en noviembre, con una temperatura media de 14,6 °C y valores de humedad de 51,1 l/m². En el Pasificado Artificial o Soleo Artificial, en adelante SA, los racimos fueron secados utilizando una cámara climática a temperatura controlada constante a 40°C y una humedad, también constante, al 60%. Estos valores fueron optimizados en un estudio previo por miembros del grupo de investigación [1]. Ambos procesos de secado se dieron por finalizados cuando el porcentaje medio de pérdida de peso de los racimos fue aproximadamente del 30%, siendo necesarios 14 días en el

SN (cinco muestreos) y 8 días en el SA (tres muestreos), tomándose una muestra de referencia antes de la pasificación (In). Todas las muestras fueron prensadas manualmente, centrifugadas a 4000 r.p.m. durante 5 minutos y filtradas con filtros de 0,45 µm de tamaño de poro (Millipore, Bedford, MA, USA). Posteriormente las muestras fueron acetificadas hasta pH 3 con ácido clorhídrico, con la finalidad de ralentizar los procesos de oxidación.

2.2. Parámetros analizados

Color: El estudio del color de las muestras se ha realizado midiendo el espectro de absorción de los mostos obtenidos entre 380 y 700 nm, utilizando agua como referencia. Se han utilizado cubetas de cuarzo de 1 cm de paso de luz. Todas las medidas se han realizado en un espectrofotómetro UV-Vis Unicam modelo Helios Gamma & Delta, equipado con el software "Aurora v. Helios 1.00" para la adquisición de los datos. Una vez obtenidos los resultados fueron transformados en coordenadas espaciales CIELab con iluminante patrón D65 y campo visual de 10°, calculándose los parámetros L (luminosidad), a (componente roja-verde) y b (componente amarilla-azul).

Índice de Polifenoles Totales (IPT): El contenido total de polifenoles se determinó espectrofotométricamente de acuerdo con el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu. La absorbancia fue medida a 750 nm utilizando un espectrofotómetro UV-VIS (Unicam, helios γ). El contenido polifenólico fue calculado a partir de una curva de calibrado realizada con ácido gálico y el resultado fue expresado en equivalentes de ácido gálico.

Poder Antioxidante (PA): El método utilizado para la medida del poder antioxidante se basa en el seguimiento espectrofotométrico de la reacción de oxidación del compuesto ABTS por la aplicación de corriente. Este compuesto forma un catión-radical de larga vida que proporciona una coloración verde. Los polifenoles presentes en la muestra ejercen una competencia con el ABTS frente a la oxidación. De esta forma, se puede relacionar el tiempo que tarda en oxidarse el ABTS (aparición de la coloración verde) con la capacidad antioxidante de los compuestos polifenólicos presentes. Este método ha sido optimizado y validado previamente por miembros del grupo de investigación [2,3].

Determinación de ácido D-Glucónico: El contenido de ácido glucónico en las muestras se ha determinado mediante el método enzimático de Boehringer Mannheim (R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany) [4].

Determinación de Ocratoxina A (OTA): Los niveles de OTA en las muestras analizadas se han determinado mediante HPLC con detección fluorimétrica (FLC). Este método ha sido desarrollado y optimizado por investigadores del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Cádiz [5]. La separación se ha realizado en un cromatógrafo de líquidos Waters Alliance 2695 (Milford, MA, USA) equipado con un detector "Waters 474 Scanning Fluorescence Detector" (Milford, MA, USA), la columna utilizada ha sido una columna cromatográfica analítica de fase reversa Gemini™ 5µm C18 110^a de 250 mm × 4.6 mm d.i. y 5 µm de tamaño de partícula (Phenomenex, Torrance, CA, USA).

3. Resultados y Conclusiones

La evolución del color de cada una de las muestras analizadas puede verse en la Fig. 1. Como puede apreciarse, existe una distribución temporal de las coordenadas cromáticas más lineal en el caso del SA que en el SN. Si analizamos la relación existente entre el grado de deshidratación y la coordenada a, se observa una muy buena correlación en el caso del SA ($r = 0,971$), sin embargo no existe correlación significativa en el SN ($r = 0,380$). En el caso de la coordenada b, en ambos ensayos existe una buena correlación respecto al aumento de pasificación medido como pérdida de peso medio de los racimos. Los

valores obtenidos fueron $r = 0,751$ para el SN y $r = 0,874$ en el SA. La luminosidad (L) decrece conforme avanza la sobremaduración. Al igual que en los dos casos anteriores, el mayor coeficiente de correlación ($r = -0,966$) se encuentra en el SA. Es lógico que conforme avanza la deshidratación de la uva, el mosto se encuentra más concentrado, presentando una disminución en su luminosidad (L) y un aumento de la concentración de los compuestos responsables del color, principalmente de compuestos polifenólicos,

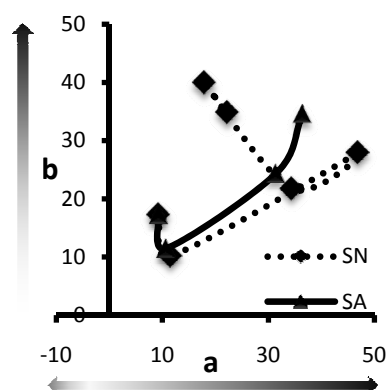


Figura 1: Evolución de los parámetros a, b y L con la pasificación.

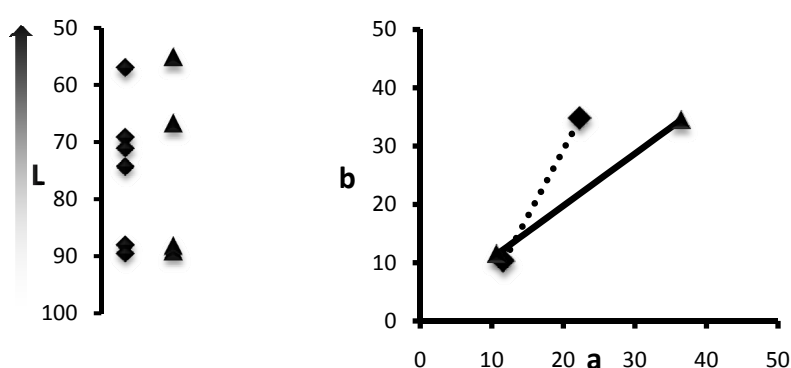


Figura 2: muestras del primer y último muestreo de cada ensayo en el plano formado por las coordenadas CIELab a y b.

Pero no es el único proceso que tiene lugar, durante la pasificación también intervienen reacciones de pardeamiento, tanto químicas como enzimáticas. Por efecto de la temperatura, se produce la reacción de Maillard entre monosacáridos y aminoácidos; por otra parte se produce la oxidación de la materia polifenólica por enzimas oxidativas. Estas se encuentran de forma natural en la uva, pero su acción se puede ver muy acentuada si además existe una contaminación microbiana. Si nos centramos únicamente en los mostos obtenidos tras el primer y último muestreo de cada ensayo (Fig. 2), podemos observar como en los dos casos se produce una importante diferencia de color, apreciable por el ojo humano ($\Delta E > 3$). En el SA esta percepción cromática entre la muestra inicial y final es más acusada, lo que implica que durante esta pasificación se ha experimentado una mayor evolución del color.

Tabla 3. Datos de las rectas de calibrado realizadas en los análisis de IPT y Poder Antioxidante

Análisis	Puntos (repeticiones)	Rango de concentraciones estudiado	Recta de calibrado	r^2
IPT	6 (n=2)	0-1000 ppm de ácido gálico	$y = 0,0011x + 0,0240$	0,9961
PA	6 (n=3)	0 - 25 mM de Trolox	$y = 0,0276x + 0,0510$	0,9861
OTA		0,2 - 5,0 $\mu\text{g/kg}$ de OTA	$y = 81682,62x + 2448,46$	0,9995

Las curvas de calibrado obtenidas en las determinaciones del IPT, PA y OTA, junto con otros datos relacionados, se muestran en la Tabla 3. Los resultados de estos parámetros de las muestras analizadas, junto con la desviación estándar de las medidas, se recogen en la Tabla 4. Queda de manifiesto que el SA es el que da lugar a muestras con mayor IPT, presentando una tendencia creciente en todo momento. En cuanto al SN se observa un máximo de IPT y una caída posterior. Esto puede ser debido a que en una primera fase predominen los fenómenos de concentración por pérdida de agua de la baya mientras que posteriormente pueden empezar a tomar mayor relevancia los fenómenos de hidrólisis y oxidación de los compuestos fenólicos presentes en el mosto. Esta misma tendencia se observa en los valores del PA si bien el máximo se alcanza días antes que en el caso del IPT. El hecho de que los máximos de PA e IPT no coincidan se puede explicar por la distinta capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos. Teniendo en cuenta que la tendencia en el poder antioxidante es siempre creciente, podemos pensar que en el SN la pasificación está influenciada por los cambios lumínicos y climáticos no controlados, provocando que los efectos de hidrólisis y oxidación se presenten de forma más descontrolada y acusada.

Tabla 4. Valores del IPT, PA, concentración de OTA de las muestras estudiadas.

Muestras	[ac. Gálico] _{eq} (mg/l)	[Trolox] _{eq} (mg/l)	[OTA] (μg/kg)	[AG] (mg/L)
Inicio	192,27 ± 3,21	0,67 ± 0,04	n.d.	72,383 ± 4,683
SN1	229,09 ± 9,00	1,07 ± 0,33	n.d.	147,133 ± 2,007
SN2	496,36 ± 5,14	4,53 ± 0,04	n.d.	170,314 ± 4,014
SN3	583,64 ± 1,29	1,80 ± 0,15	n.d.	357,660 ± 0,000
SN4	478,18 ± 19,28	0,91 ± 0,11	n.d.	62,449 ± 5,352
SN5	260,00 ± 16,71	0,86 ± 0,11	n.d.	715,793 ± 50,179
SA1	173,64 ± 15,43	0,80 ± 0,03	n.d.	823,659 ± 24,755
SA2	434,09 ± 0,64	2,74 ± 0,09	n.d.	72,383 ± 4,683
SA3	706,82 ± 16,07	4,32 ± 0,49	1,756 ± 0,004	147,133 ± 2,007

Respecto a las concentraciones de OTA, en las muestras analizadas no se ha detectado su presencia en las uvas sometidas al proceso de SN. Sin embargo, el crecimiento de hongos de la especie *Aspergillus* si han tenido lugar en la cámara climática, detectándose concentraciones de OTA en las muestras tomadas el último día, aunque este se encuentra por debajo del límite legal permitido. Diversas investigaciones [6,7], demuestran que no existe crecimiento de *A. Carbonarius* a 10 °C, mientras que a 15°C solo se produce a elevados niveles de actividad del agua y su desarrollo es muy lento. Por tanto, debido a las temperaturas de pasificación en el SN el hongo no ha evolucionado, mientras que las condiciones del SA han permitido su proliferación. También se observa un contenido superior de AG en las muestras pasificadas artificialmente frente a las pasificadas de forma natural, lo que implicaría un mayor ataque del hongo *B. Cinerea* a las muestras sometidas al SA. Además la variedad Garnacha presenta un hollejo muy fino y sensible a daños, que pueden favorecer aún más el crecimiento de este hongo.

Con este estudio se corrobora que el tipo de pasificación diferencia significativamente el contenido del mosto en cuanto a los valores de IPT, PA y color. En el SN los fenómenos de oxidación e hidrólisis se presentan más acentuados y variables. No obstante, aunque a priori no se consiga obtener el mismo producto utilizando el SA, se ha de tener en cuenta que quizás estos resultados puedan ser positivos; los valores superiores de actividad antioxidante constituye un efecto positivo para la salud del consumidor. Para confirmar si estos cambios en cuanto a composición producidos en la cámara climática son o no beneficiosos, habría que estudiarse si conllevan asociados cambios organolépticos en el producto final.

No obstante, con vistas a posteriores estudios de vinificación sería interesante el ensayo de otras variedades de uvas tintas con hollejos de mayor grosor y resistencia a daños que la Garnacha tinta, lo que podría disminuir el crecimiento de hongos. Otra opción sería la optimización de las variables de temperatura y humedad de la cámara climática para dichas variedades.

4. Bibliografía

- [1] Castro, R.; Márquez, R. & Barroso, Carmelo G. 2005. **Cambios aromáticos y polifenólicos durante el pasificado natural y artificial de uvas: Resultados Preliminares.** In: *Avances en Ciencias y Técnicas Enológicas*.
- [2] Alonso, A.M.; Gillén, D.A. & Barroso, Carmelo G. 2003. **Development of an electrochemical method for the determination of antioxidant activity application to grape-derived products.** *Eur. Food Res Technol.* 216 (5), 445-448
- [3] Alonso, A. M.; Domínguez, C.; Guillén, D. A. & Barroso, Carmelo G. 2002. **Determination of antioxidant power of red and white wines by a new electrochemical method and its correlation with polyphenolic content.** *J. Agr. Food Chem.* 50 (11), 3112-3115.
- [4] Índice de Folin-Ciocalteu. 1991. **Métodos de análisis comunitarios aplicables en el sector del vino.** AMV Ediciones.
- [5] Hernández, M. J.; García-Moreno, M. V.; Durán, E.; Guillén, D. & Barroso, Carmelo G. 2006. **Validation of two analytical methods for the determination of Ochratoxin A by reversed-phased high-performance liquid chromatography coupled to fluorescence detection in musts and sweet wines from Andalusia.** *Anal Chim Acta*, 566, 117-121.
- [6] Mitchell, D.; Parra, R.; Aldred D. & Magan, N. 2004. **Water and temperature relations of growth and ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* strains from grapes in Europe and Israel.** *J. App. Microb.*, 97, 439-445.
- [7] Bellí, N.; Ramos, A.J.; Coronas, I.; Sanchis V. & Marín, S. 2005. ***Aspergillus carbonarius* growth and ochratoxin A production on a synthetic grape medium in relation to environmental factors.** *J. App. Microb.* 98, 839-844.